

平成 30 年 5 月 23 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (特設分野研究)

研究期間：2014～2017

課題番号：26310204

研究課題名(和文)非平衡確率過程モデルの恒等式群と医療・美容

研究課題名(英文)Application of theorems of non-equilibrium stochastic models to medical and cosmetic problems

研究代表者

林 久美子 (Hayashi, Kumiko)

東北大学・工学研究科・助教

研究者番号：00585979

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,400,000円

研究成果の概要(和文)：分子モーターキネシンやダイニンによるオルガネラ輸送は医療や美容と関連が深い。例えばアルツハイマー病などの神経疾患では軸索輸送障害が問題となるし日焼けの原因となるメラニン色素の顆粒輸送もキネシンやダイニンが担う。非平衡統計力学は輸送を扱う学問であるが、非平衡統計力学の恒等式をこのような輸送に応用した。これらの輸送は非平衡確率過程とみなせるからである。具体的にはシナプス小胞前駆体輸送とメラニン色素顆粒輸送を調べた。前者では恒等式の利用でシナプス形成位置に異常がでる変異体において物理的要因を突き止めた。後者ではダイニン阻害剤シリオブレビンの効果を輸送に関連する力や分子モーターの数から評価した。

研究成果の概要(英文)：Organelle transport by kinesin and dynein is deeply related to medical and cosmetic issues. For example, deficit of the transport is a problem as to Alzheimer disease, and melanin pigment produced by sunburn is also transported by kinesin and dynein as melanosomes. The theorems of non-equilibrium statistical mechanics were applied to the in vivo transport because the transport was represented by non-equilibrium stochastic processes. Concretely, we investigated synaptic vesicle precursor transport and melanosome transport. The physical reasons of mis-location of synapses and the effect of dynein inhibitor called ciliobrevin on force and number of motors were clarified.

研究分野：非平衡統計力学

キーワード：非平衡統計力学 分子モーター 医療

1. 研究開始当初の背景

これまで申請者は詳細釣り合いの破れる確率過程モデルで非平衡現象を調べたり、局所詳細釣り合いの性質をハミルトン系から調べたりする基礎研究を行ってきたが、これらの研究を実験に役立てることを考えた。確率過程モデルで局所詳細釣り合いを仮定し、揺らぎの定理や Jarzynski 等式等の揺らぎに関する様々な恒等式を体系的に導くことができる。熱揺らぎの中で動く生体分子の運動を確率過程として捉えることで、生体分子の1分子実験に、これらの関係式を応用できると考えた。とくに局所詳細釣り合いに基づく恒等式(特に揺らぎの定理)の神経細胞軸索輸送の実験への応用に関して、基礎実験で理論を検証し、医療・美容分野へ応用しようとした。

2. 研究の目的

非平衡確率過程モデルの恒等式を *in vitro* の1分子実験だけでなく、生きている細胞内で応用する。具体的には、神経細胞軸索内でオルガネラ(細胞小器官)を運ぶタンパク質モーターキネシン及びダイニンの力や数を揺らぎの定理から測定する。生体内の輸送現象は医療や美容分野と関連が深いので、そのメカニズム解明は社会にとって重要である。

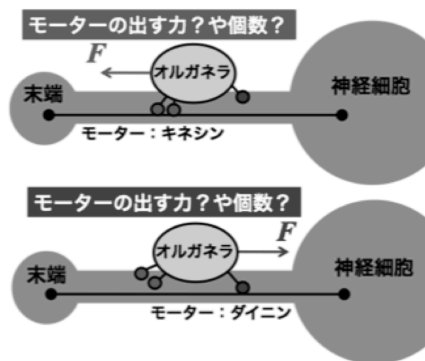
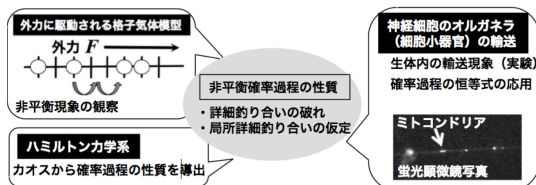


図1 研究目的。

3. 研究の方法

神経細胞や色素細胞を培養しオルガネラを蛍光顕微鏡観察する。顕微鏡観察で得られ

た動画からオルガネラの重心を得る。重心位置のタイムコースを非平衡確率過程として揺らぎの定理を利用し、オルガネラ(細胞小器官)を運ぶタンパク質モーターキネシン及びダイニンの力や数を得る。

4. 研究成果

ゼブラフィッシュの色素顆粒(メラノソーム)輸送ではホルモン添加による色素顆粒の凝集過程を研究した。このような揺らぐ一方向運動は典型的な非平衡確率過程と言える。揺らぎの定理を用いてメラノソームの重心位置を解析した結果、メラノソームは複数個のダイニンに協同で輸送されていることが分かった。また、揺らぎの定理の利用の検証としてシリオブレビンを用いた実験を行った。シリオブレビンはダイニン阻害剤であるため添加によりメラノソームを輸送するダイニン数を減らすことができる。シリオブレビン添加後のメラノソーム重心位置を揺らぎの定理を用いて解析すると確かにダイニン数が減少していることが分かった。

また、線虫神経細胞でシナプス小胞前駆体輸送の観察を行なった。シナプス形成位置の異常が見られるなど輸送力が弱まった変異体線虫が先行研究で報告されていたが、本研究ではこの変異体線虫と野生型線虫を揺らぎの定理を用いて比較した。その結果輸送力が弱まる変異体線虫で、シナプス小胞前駆体を輸送するキネシンの数が減少していることを見出した。

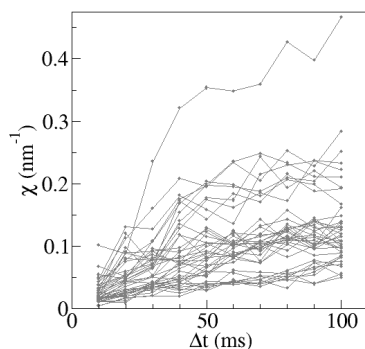


図2 シナプス小胞前駆体輸送(野生型)への揺らぎの定理の応用。 χ は揺らぎのユニットであり、この分散性が輸送を担うキネシン数を表す。論文①より。

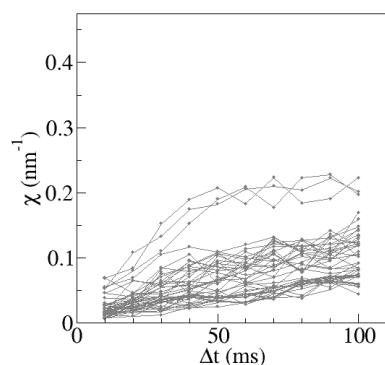


図3 シナプス小胞前駆体輸送(輸送力の弱い変異型)への揺らぎの定理の応用。キネシン数の減少が分かった。論文①より。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計4件)

① Kumiko Hayashi, Shin Hasegawa, Takashi Sagawa, Sohei Tasaki, and Shinsuke Niwa.

Non-invasive force measurement reveals the number of active kinesins on a synaptic vesicle precursor in axonal transport regulated by ARL-8

Phys. Chem. Chem. Phys., 査読有, 20,2018, 3403-3410.

DOI: 10.1039/C7CP05890J

② Kumiko Hayashi, Shin Hasegawa, and Satoshi P. Tsunoda

Giant enhancement of fluctuation in small biological systems under external fields.

J. Stat. Mech. 査読有, 2016, 054028

DOI:10.1088/1742-5468/2016/05/054028

③ Ryunosuke Hayashi, Kazuo Sasaki, Seishi Kudo, Shuichi Nakamura, Yuichi Inoue, Hiroyuki Noji, and Kumiko Hayashi.

Giant acceleration of diffusion observed in a single-molecule experiment on F₁-ATPase

Phys. Rev. Lett. 査読有, 114, 2015, 248101

DOI:https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.114.248101

④ Jun-ichi Kishikawa, Akihiko Seino, Atsuko Nakanishi, Naciye Esma Tirtom, Hiroyuki Noji, Ken Yokoyama and Kumiko Hayashi

F-subunit reinforces torque generation in V-ATPase

Euro. Biophys. J., 査読有, 43, 2014, 415-422

DOI:10.1007/s00249-014-0973-x

[学会発表] (10件)

① Kumiko Hayashi, Shin Hasegawa, Takashi Sagawa, Sohei Tasaki, and Shinsuke Niwa.

Non-invasive force measurement reveals the number of active kinesins on a synaptic vesicle precursor in axonal transport regulated by ARL-8, 62nd Annual meeting of the Biophysical Society, San Francisco, 2018

② Kumiko Hayashi

Non-invasive force measurement using fluctuation for organelle transport in neurons, The 2017 Annual meeting of the Australian Society for Biophysics, Sydney, 2017

③ 林 久美子

ゆらぎを利用した低侵襲な力測定による神経細胞オルガネラ輸送の解明, 第55回日本生物物理学会年会, 2017, 熊本

④ 林 久美子,

複数分子モーターによる細胞内オルガネラ輸送: モーター数を数える, 第69回日本細胞生物学会年会, 2017, 仙台

⑤ 長谷川 慎, 池田 一穂, 佐川 貴志, 岡田康志, 林 久美子

ゆらぎの定理を用いた非侵襲な力測定によるメラニン色素顆粒輸送のメカニズムの解明, 第54回日本生物物理学会年会, 2016, つくば

⑥ 林 久美子

ゆらぎからモーター数を数える~複数分子モーターによる協同的オルガネラ輸送~, 日本分子生物学会第38回年会, 2015, 神戸

⑦ 長谷川 慎, 池田 一穂, 岡田 康志, 林久美子,

ゆらぎ計測によるゼブラフィッシュ色素顆粒輸送の力-速度関係, 第53回日本生物物理学会年会, 2015, 金沢

⑧ 林 久美子, 岡田 康志

神経細胞オルガネラ輸送におけるキネシンとダイニンの数の測定: 揺らぎの定理の応用, 第53回日本生物物理学会年会, 2015, 金沢

⑨ 林 龍之介, 中村 修一, 工藤 成史, 佐々木 一夫, 野地 博行, 林 久美子,

回転電場を用いた F₁-ATPase の一分子計測による拡散の Giant acceleration の観察 II, 第52回日本生物物理学会年会, 2014, 札幌

⑩ 澤入 尚人, 有賀 隆行, 岩城 光宏, 富重道雄, 林 久美子

複数のキネシンによる協調的カーゴ輸送の

メカニズムの解明, 第 52 回日本生物物理学
会年会,2014, 札幌

〔図書〕(計 1 件)

林久美子他、化学同人出版、1 分子ナノバイ
オ計測：分子から生命システムを探る革新
的技術 2014, 213-215 (総ページ数 222 ペー
ジ)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

林 久美子 (HAYASHI Kumiko)
東北大学・大学院工学研究科・助教
研究者番号：00585979

(2) 研究分担者

岡田 康志 (Okada Yasushi)
東京大学・大学院理学系研究科・教授
理化学研究所・生命システム研究センタ
ー・チームリーダー
研究者番号：50272430

池田 一穂 (IKEDA Kazuho)
理化学研究所・生命システム研究センタ
ー・上級研究員
研究者番号：20642565

丹羽 伸介 (NIWA Shinsuke)
東北大学・学際科学フロンティア研究所・
助教
研究者番号：30714985